

ОБЪЕДИНЕННЫЙ
ИНСТИТУТ
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ
ДУБНА

P19-86-417

С.Козубек, Е.А.Красавин, Р.Д.Говорун,
Е.А.Насонова

ЛЕТАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ
УСКОРЕННЫХ ТЯЖЕЛЫХ ИОНОВ
НА КЛЕТКИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ
В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ ИНГИБИТОРОВ
СИНТЕЗА ДНК

Теоретический анализ

Направлено в журнал "Радиобиология"

1986

В предыдущем сообщении мы рассмотрели зависимость радиочувствительности клеток китайского хомячка от L при облучении в стандартных условиях и в присутствии ингибиторов синтеза ДНК - АраЦ и ОМ^{1/}. Было показано, что сенсibiliзирующее влияние АраЦ + ОМ в наибольшей степени проявляется при γ -облучении клеток и отсутствует при действии частиц с $L > 100$ кэВ/мкм. Радиосенсибилирующее влияние АраЦ + ОМ обусловлено повышением выхода энзиматических двунитевых разрывов /ЭДР/ ДНК^{2/}, что объясняет отсутствие модифицирующего действия этих агентов при облучении клеток тяжелыми ионами, поскольку в этом случае индуцируются главным образом прямые ДР /ПДР/ ДНК^{3/}. С учетом этого проведем анализ полученных данных в рамках модели, допускающей образование лишь однотипных ДР ДНК при действии излучений с разной L ^{4/}, и на основе представлений, разработанных нами^{5, 6/}, которые учитывают разный характер ДР ДНК, индуцируемых при γ -облучении и действии частиц с высокой L . Прежде чем приступить к изложению полученных результатов, коротко рассмотрим основные положения указанных моделей.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ МОДЕЛЕЙ

В модели Гюнтера - Шульца - наиболее разработанной из микродозиметрических моделей^{4/}, предполагается, что летальные для клеток события возникают с некоторой вероятностью N в результате образования k повреждений ДНК. Вероятность гибели клетки при образовании таких повреждений $N(k)$ увеличивается с возрастанием количества повреждений ДНК k . Предполагается, что повреждения ДНК возникают в результате выделения определенного количества энергии в ДНК клеток, и вероятность образования повреждений ДНК (λ) увеличивается с ростом количества ионизаций в молекуле ДНК (i). Для расчета кривой выживания клеток необходимы сведения о характере функций $N(k)$, $\lambda(i)$ и величине геометрического поперечного сечения чувствительной области клеток. Определение зависимости $N(k)$ для разных типов клеток производится на основе их кривой выживания при γ -облучении, поэтому характер этой функции определяется величиной плеча кривой выживания клеток. В рамках модели форма кривых выживания при действии излучений с разной L отражает влияние следующих факторов: уменьшение плеча дозовой кривой с ростом L связано с увеличением флуктуаций энергии частиц по чувствительным мишеням клеток, величина угла наклона кривой помимо этого определяется допол-

нительным параметром - величиной микро-ОБЭ (τ), который является коэффициентом относительной биологической эффективности /ОБЭ/ по выходу повреждений ДНК. Значение τ связано с функцией $\lambda(i)$, которую можно вычислить, зная зависимость $\tau(L)$. Независимо от типа клеток предлагается серия универсальных значений микро-ОБЭ.

Таким образом, на основе модели Гюнтера - Шульца можно рассчитать кривые выживания клеток при действии излучений с разной L в стандартных условиях и в условиях, модифицирующих выход ДР ДНК. Очевидно, что разница между двумя этими условиями в рамках рассмотренной модели будет отражаться в разном характере функций $N(k)$, поскольку выход повреждений в этих условиях не меняется и зависит только от свойств излучений разных типов.

В модели^{5,6/} учитывается существование двух различных по своему происхождению типов ДР ДНК: энзиматических и прямых. Предполагается, что выделение энергии заряженной частицей в ДНК может приводить к образованию односторонних разрывов /ОР/ в любой из ее нитей. Возникновение ОР в комплементарных участках ДНК вызывает ПДР ДНК. Следовательно, ПДР образуются в результате прохождения одной частицы через молекулу ДНК, и их выход линейно возрастает с дозой облучения. При γ -облучении ПДР возникают существенно реже, чем ЭДР, за счет образования кластеров ионов в конце пробега δ -электронов. С учетом этого в рамках модели определены зависимости выхода ЭДР и ПДР от L . Единственным свободным параметром этой модели является вероятность возникновения ОР ДНК на один акт передачи энергии /60 эВ/.

С учетом вышеизложенного в рамках двух указанных моделей проведем расчет кривых выживания клеток при действии излучений с разной L в стандартных условиях и в присутствии ингибиторов синтеза ДНК.

МЕТОДЫ РАСЧЕТА И РЕЗУЛЬТАТЫ

Пусть количество ДР ДНК, образующихся из ОР, составляет их k_1 -тую долю для клеток, облученных в стандартных условиях, и k_2 -тую долю для клеток в присутствии АраЦ + ОМ. Очевидно, что $k_2 > k_1$, поскольку АраЦ + ОМ, блокируя репарацию части ОР, создают условия для образования ЭДР ДНК. Общее количество индуцируемых ДР ДНК тогда будет:

$$N_{\text{ДР}} = k \cdot N_{\text{ОР}} + N_{\text{ПДР}}, \quad /1/$$

где $k = k_1$ или k_2 , $N_{\text{ОР}}$ - выход ОР ДНК, $N_{\text{ПДР}}$ - выход ПДР ДНК. В отличие от прокариот, у клеток млекопитающих связь между выходом ДР ДНК и выживаемостью клеток неизвестна. С учетом этого предположим, что для клеток китайского хомячка существует монотонная зависимость между количеством ДР ДНК, возникающих в геноме, и вероятностью гибели клеток, независимо от присут-

ствия ингибиторов синтеза ДНК. В связи с этим заметим, что сделанное предположение существенно отличается от такового в модели Гюнтера - Шульца, так как в последнем случае разная чувствительность клеток к γ -облучению обуславливает разный характер функции $N(k)$. Это означает, что в присутствии АраЦ + ОМ увеличивается не количество ДР ДНК в геноме при облучении, а возрастает вероятность их проявления. На первый взгляд, это обстоятельство может показаться несущественным, однако оно оказывается решающим при предсказании чувствительности клеток к действию излучений с разной L в условиях влияния ингибиторов синтеза ДНК, поскольку с увеличением L меняется спектр индуцируемых ДР ДНК.

Расчет кривых выживания клеток при действии излучений, различающихся по L , проведем по следующей схеме: в соответствии с^{4/} кривая выживания $S(D)$ представляется как сумма

$$S = \sum_{\mu=1}^n V_{\mu} \cdot e^{-\alpha_{\mu} \cdot D}, \quad /2/$$

где V_{μ} и α_{μ} - параметры, определяемые из кривой выживания при γ -облучении. Для других типов излучений значения α_{μ} можно заменить на $A(\tau \cdot \alpha_{\mu})$, где τ , как уже указывалось, есть соотношение выходов повреждений ДНК для исследуемого и γ -излучения. Функцию $A(\eta)$ можно записать как

$$A(\eta) = 0,16 \frac{\sigma_0 \cdot F(x, \epsilon)}{L}, \quad /3/$$

где σ_0 - геометрическое поперечное сечение, мкм²,

$$F(x, \epsilon) = \frac{h(x + \epsilon x) - h(x - \epsilon x)}{\epsilon x} \quad \text{и} \quad h(x) = \frac{1 - x + x^2/2 - e^{-x}}{x}.$$

Здесь $x = \frac{3}{2} \frac{L \cdot \eta}{0,16 \cdot \sigma_0}$, $\epsilon^2 = \frac{8}{3} \frac{\delta_2 / \ell}{L}$, $\ell = \frac{4}{3} \sqrt{\frac{\sigma_0}{\pi}}$, мкм, δ_2 - страгглинг, кэВ.

Для расчета кривых выживания по модели Гюнтера - Шульца были взяты универсальные значения τ , величины которых представлены в табл.1. Величина σ_0 была принята равной ≈ 120 мкм^{2/4/}. Значения параметров V_{μ} и α_{μ} для клеток, облученных в стандартных условиях и в присутствии АраЦ + ОМ, представлены в табл.2.

Учитывая флуктуации энергии частиц по чувствительным микро-объемам клеток и характер кривой выживания при γ -облучении, можем рассчитать выход повреждений, связанных с летальным эффектом, для конкретного типа излучения. Их выход относительно такового при γ -облучении в стандартных условиях приведен в табл.3. Здесь же представлен выход ОР и ПДР ДНК, рассчитанный по нашей модели. В последних двух колонках таблицы представлены теоретические значения суммарных выходов ДР ДНК /суммы ЭДР

Таблица 1

Значения параметров δ_r и r для использованных типов излучений

Тип излучения	L, кэВ/мкм	δ_r	r
γ -кванты ^{137}Cs	0,3	-	I
^4He	22	1,522	1,750
^4He	60	0,518	2,866
^{12}C	231	1,300	4,250
^{20}Ne	690	1,170	2,850

Таблица 2

Значения параметров B_μ и a_μ для кривых выживания клеток при γ -облучении

Стандартные условия		АраЦ+ОМ	
a_μ	B_μ	a_μ	B_μ
0,369	3,997	0,464	1,999
0,727	-4,594	3,293	-35,851
1,526	2,699	4,309	161,295
2,325	-1,571	5,324	-361,379
3,125	0,553	6,340	502,059
3,925	-0,085	7,356	-461,202
		8,372	282,555
		9,387	-111,651
		10,403	25,844
		11,419	-2,670

Таблица 3

Выходы повреждений ДНК / N_{OP} и $N_{ПДР}$ /, рассчитанные по модели $^{5/}$, экспериментальные и теоретические значения параметров r_1 и r_2

Вид излучения	L, кэВ/мкм	N_{OP} сГр $^{-1}$ ·дальтон $^{-1}$	$N_{ПДР}$ сГр $^{-1}$ ·дальтон $^{-1}$	r_1 (стандартные условия)		r_2 (АраЦ+ОМ)	
				экспериментальные*	теоретические**	экспериментальные*	теоретические**
γ -кванты	0,3	1,41·10 $^{-12}$	5,08·10 $^{-16}$	I	I	I,46	I,46
^4He	22	1,28·10 $^{-12}$	3,35·10 $^{-14}$	1,98	2,33	2,59	2,70
^4He	60	1,24·10 $^{-12}$	7,37·10 $^{-14}$	4,05	3,86	4,42	4,19
^{12}C	231	8,14·10 $^{-12}$	10,40·10 $^{-14}$	4,90	4,99	5,07	5,26
^{20}Ne	690	6,12·10 $^{-12}$	7,98·10 $^{-14}$	4,96	3,82	4,00	4,02

* - Значения получены из кривых выживания /исходной является кривая выживания клеток при γ -облучении в стандартных условиях/.

$$** - r_1 = (k_1 \cdot N_{OP} + N_{ПДР}) / r_{1\gamma}$$

$$r_2 = (k_2 \cdot N_{OP} + N_{ПДР}) / r_{1\gamma}$$

$r_{1\gamma}$ - r для γ -облучения в стандартных условиях.

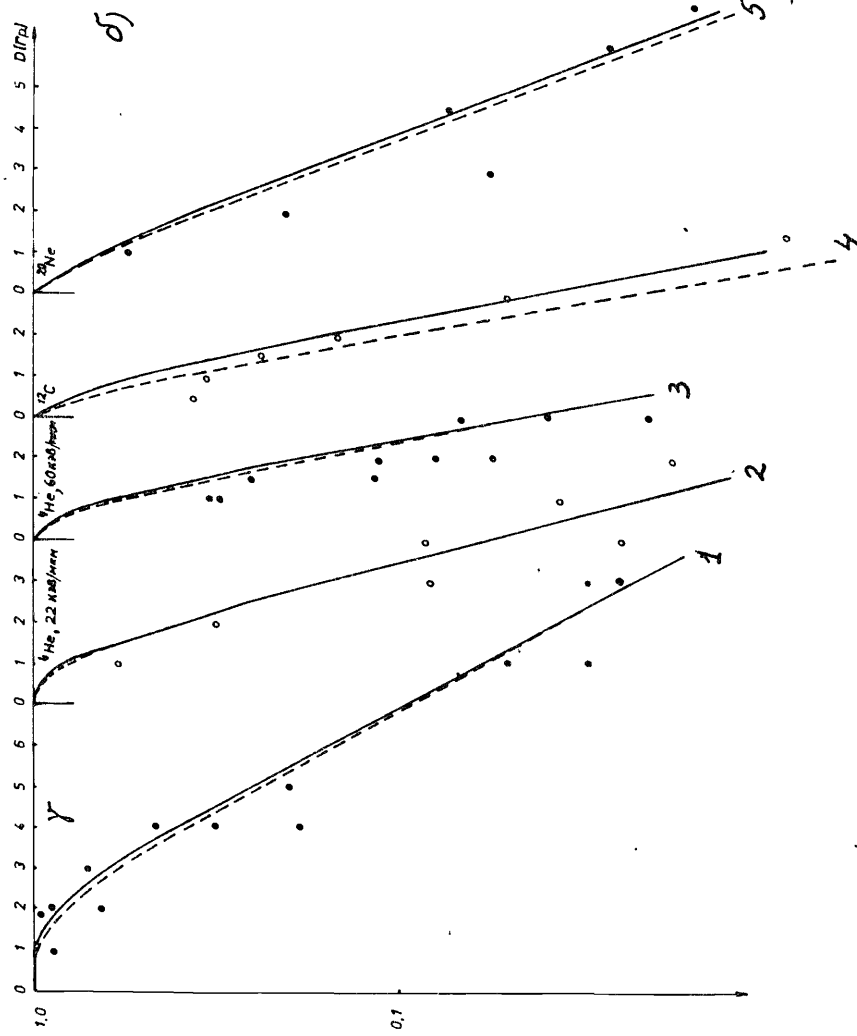
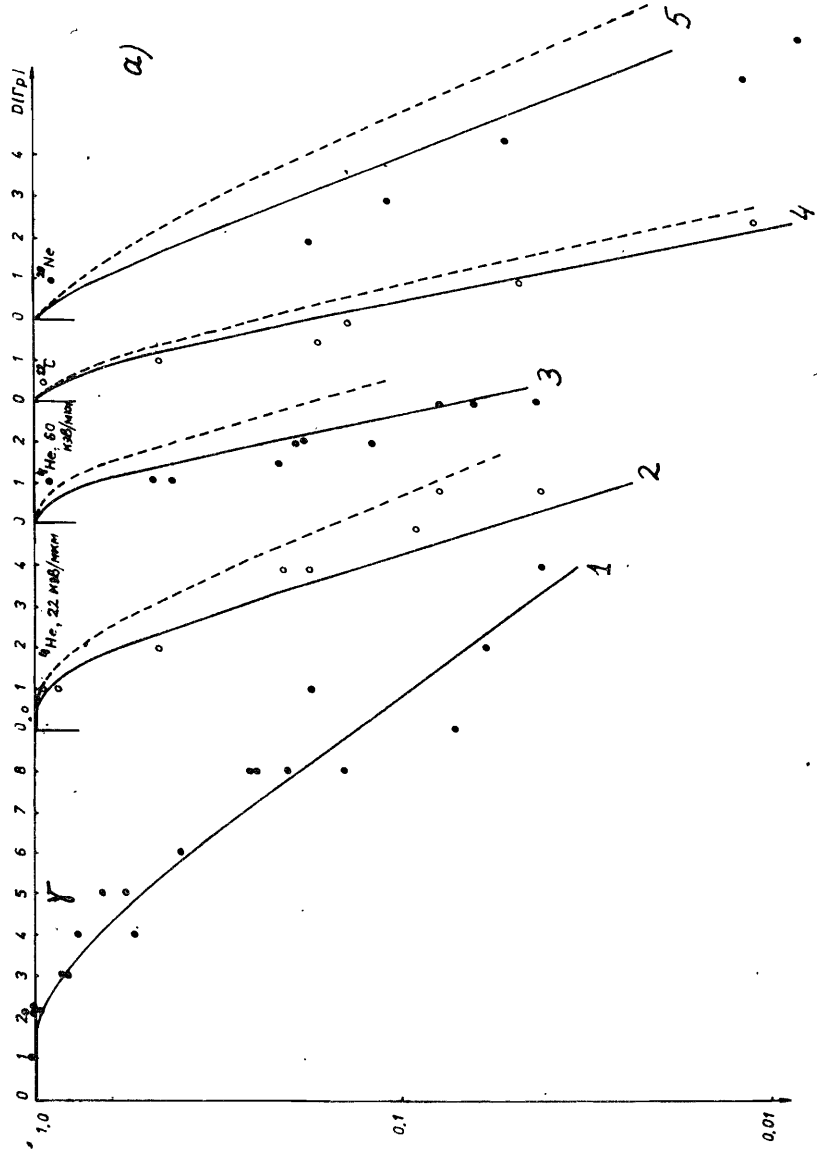


Рис. 1. Теоретические кривые выживания клеток китайского хомьчка V79 при действии разных типов излучений. По оси абсцисс - Доза, Гр. По оси ординат - выживаемость. а/ Облучение в стандартных условиях, б/ облучение в присутствии Арац + ОМ. 1 - γ - кванты ^{187}Cs , 2 - ионы гелия (22 кэВ/ммк), 3 - ионы гелия (60 кэВ/ммк), 4 - ионы углерода, 5 - ионы неона. Экспериментальные точки приведены в /1/. Пунктиром обозначены теоретические кривые, рассчитанные по модели Гюнтера - Шульца /4/, сплошными линиями - по модели Козубека - Кравина /3, 5, 6/.

и ПДР/, рассчитанные по /1/ при $k_1 = 0,0167$ и $k_2 = 0,0244$. Соответствие этих значений величинам r_1 и r_2 , полученным на основе кривых выживания, можно видеть из рис.1. Заметим, что в отличие от модели Гюнтера - Шульца, в рамках которой значения k_1 и k_2 можно получить лишь путем подгонки двух параметров для разных типов излучений /и эти параметры не имеют реальной биологической интерпретации/, в нашей модели указанные параметры представляют долю ОР ДНК, трансформирующихся в ДР. Как видно из табл.3, для стандартных условий эта доля составляет 1,67%, в условиях влияния АраЦ + ОМ она увеличивается до 2,44%.

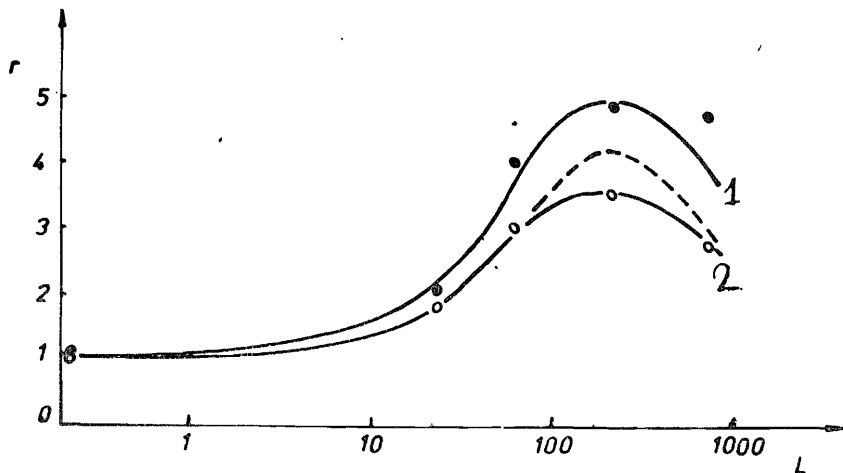


Рис.2. Сопоставление теоретических и экспериментальных значений параметров r от ЛПЭ. По оси абсцисс - L , кэВ/мкм. По оси ординат - параметры r . 1 - облучение клеток китайского хомячка в стандартных условиях (r_1), 2 - облучение в присутствии АраЦ + ОМ (r_2). Пунктиром показана зависимость значений универсальных микро-ОБЭ от ЛПЭ по модели Гюнтера - Шульца /4/.

С учетом вышеизложенного на основе модели Гюнтера - Шульца и нашей модели были рассчитаны кривые выживания клеток китайского хомячка при действии различных типов излучений в стандартных условиях и в присутствии АраЦ + ОМ. Результаты расчетов приведены на рис.2. Видно, что соответствие теоретических кривых, рассчитанных по нашей модели, кривым выживания, полученным в эксперименте, существенно лучше по сравнению с моделью Гюнтера - Шульца /табл.4/. В 5 случаях из 12 разница является статистически значимой в пользу нашей модели по тесту Фишера на уровне 5%. В одном случае разница является значимой на уровне 1%. Анализ полученных данных показывает, что радиочувствительность клеток в стандартных условиях и в присутствии ингибиторов синтеза ДНК при действии излучений с $L \geq 60$ кэВ/мкм прак-

Таблица 4

Суммы квадратов отклонений теоретических и экспериментальных значений радиочувствительности клеток, рассчитанные на основе модели Гюнтера - Шульца /А/ и Козубека - Красавина /Б/

Тип излучения	L, кэВ/мкм	Стандартные условия			АраЦ+ОМ		
		А	Б	Р ⁺	А	Б	Р ⁺
$^4\text{He}^{\text{ж}}$	22	12	3	<0,05	2	2	-
$^4\text{He}^{\text{ж}}$	22	4	5	-	8	8	-
^4He	60	110	17	<0,01	55	84	-
^{12}C	231	27	8	<0,05	49	11	<0,05
^{20}Ne	690	114	31	<0,05	22	20	-

+ - Сравнение по тесту Фишера;
ж - серия независимых экспериментов.

тически одинакова, как и предсказывает предложенная нами модель. Различия в радиочувствительности клеток, рассчитанные по модели Гюнтера - Шульца, как видно из представленных материалов, сохраняются до значений $L = 690$ кэВ/мкм, соответствующих ионам неона, что противоречит экспериментальным данным.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что в рамках модели, объясняющей характер зависимости радиочувствительности клеток от L лишь на основе учета особенностей передачи энергии излучений генетическим структурам клеток, невозможна непротиворечивая интерпретация зависимости ОБЭ от ЛПЭ. Материалы наших исследований, полученные на клетках высших эукариот, свидетельствуют о том, что наряду с фактором физической природы различия в биологической эффективности ионизирующих излучений с разной L , так же как и у клеток прокариот, связаны со способностью к репарации повреждений ДНК. Относительная роль биологического и физического факторов определяется состоянием генома и зависит от ЛПЭ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Говорун Р.Д. и др. ОИЯИ, Р19-86-416, Дубна, 1986.
2. Филатов М.В., Носкин Л.А., Коношенко Н.В. В кн.: Проблемы природной и модифицированной радиочувствительности. "Наука", М., с.213.

3. Козубек С., Красавин Е.А. Радиобиология, 1984, т.24, № 4, с.462.
4. Gunter K., Schulz W. Biophysical Theory of Radiation Action. Akad.-Verlag, Berlin, 1983.
5. Козубек С., Красавин Е.А. Радиобиология, 1984, т.24, № 4, с.456.
6. Козубек С., Красавин Е.А. Радиобиология, 1984, т.24, № 4, с.520.

НЕТ ЛИ ПРОБЕЛОВ В ВАШЕЙ БИБЛИОТЕКЕ?

Вы можете получить по почте перечисленные ниже книги, если они не были заказаны ранее.

D2-82-568	Труды совещания по исследованиям в области релятивистской ядерной физики. Дубна, 1982.	1 р. 75 к.
D9-82-664	Труды совещания по коллективным методам ускорения. Дубна, 1982.	3 р. 30 к.
D3,4-82-704	Труды IV Международной школы по нейтронной физике. Дубна, 1982.	5 р. 00 к.
D11-83-511	Труды совещания по системам и методам аналитических вычислений на ЭВМ и их применению в теоретической физике. Дубна, 1982.	2 р. 50 к.
D7-83-644	Труды Международной школы-семинара по физике тяжелых ионов. Алушта, 1983.	6 р. 55 к.
D2,13-83-689	Труды рабочего совещания по проблемам излучения и детектирования гравитационных волн. Дубна, 1983.	2 р. 00 к.
D13-84-63	Труды XI Международного симпозиума по ядерной электронике. Братислава, Чехословакия, 1983.	4 р. 50 к.
D2-84-366	Труды 7 Международного совещания по проблемам квантовой теории поля. Алушта, 1984.	4 р. 30 к.
D1,2-84-599	Труды VII Международного семинара по проблемам физики высоких энергий. Дубна, 1984.	5 р. 50 к.
D17-84-850	Труды III Международного симпозиума по избранным проблемам статистической механики. Дубна, 1984. /2 тома/	7 р. 75 к.
D10,11-84-818	Труды V Международного совещания по проблемам математического моделирования, программированию и математическим методам решения физических задач. Дубна, 1983	3 р. 50 к.
	Труды IX Всесоюзного совещания по ускорителям заряженных частиц. Дубна, 1984 /2 тома/	13 р. 50 к.
D4-85-851	Труды Международной школы по структуре ядра, Алушта, 1985.	3 р. 75 к.
D11-85-791	Труды Международного совещания по аналитическим вычислениям на ЭВМ и их применению в теоретической физике. Дубна, 1985.	4 р.
D13-85-793	Труды XII Международного симпозиума по ядерной электронике. Дубна 1985.	4 р. 80 к.

Рукопись поступила в издательский отдел
27 июня 1986 года.

Заказы на упомянутые книги могут быть направлены по адресу:
101000 Москва, Главпочтамт, п/я 79
Издательский отдел Объединенного института ядерных исследований

**ТЕМАТИЧЕСКИЕ КАТЕГОРИИ ПУБЛИКАЦИЙ
ОБЪЕДИНЕННОГО ИНСТИТУТА ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ**

Индекс	Тематика
1.	Экспериментальная физика высоких энергий
2.	Теоретическая физика высоких энергий
3.	Экспериментальная нейтронная физика
4.	Теоретическая физика низких энергий
5.	Математика
6.	Ядерная спектроскопия и радиохимия
7.	Физика тяжелых ионов
8.	Криогеника
9.	Ускорители
10.	Автоматизация обработки экспериментальных данных
11.	Вычислительная математика и техника
12.	Химия
13.	Техника физического эксперимента
14.	Исследования твердых тел и жидкостей ядерными методами
15.	Экспериментальная физика ядерных реакций при низких энергиях
16.	Дозиметрия и физика защиты
17.	Теория конденсированного состояния
18.	Использование результатов и методов фундаментальных физических исследований в смежных областях науки и техники
19.	Биофизика

Козубек С. и др.

P19-86-417

Летальное действие ускоренных тяжелых ионов на клетки млекопитающих в условиях влияния ингибиторов синтеза ДНК. Теоретический анализ

С позиций модели Гюнтера-Шульца и на основе нашей модели проведен анализ зависимости радиочувствительности (D_0^{-1}) клеток китайского хомячка от линейной передачи энергии (L) при облучении в стандартных условиях и в присутствии ингибиторов синтеза ДНК - арабинозидцитозина /АраЦ/ и оксимочевины /ОМ/. Показано, что модель Гюнтера - Шульца неудовлетворительна при описании зависимости $D_0^{-1}(L)$, выявляемой у клеток, облученных в присутствии АраЦ + ОМ. В рамках наших модельных представлений получено удовлетворительное согласие экспериментальных и расчетных данных.

Работа выполнена в Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна 1986

Перевод О.С.Виноградовой

Kozubek S. et al.

P19-86-417

The Lethal Effect of Accelerated Heavy Ions on Mammalian Cells in the Presence or Absence of DNA Synthesis Inhibitors. Theoretical Analysis

The dependence of the radiosensitivity (D_0^{-1}) of Chinese hamster cells on linear energy transfer (L) in the presence or absence of arabinosid cytosine with hydroxyurea has been analysed in terms of both Günther - Schultz and our new model. The correspondence between experimental and theoretical survival curves, $D_0^{-1}(L)$ is not described satisfactorily by the Günther - Schultz model. On the other hand, our model describes experimental data reasonably well.

The investigation has been performed at the Laboratory of Nuclear Problems, JINR.

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna 1986